

## **Ação hormonal da leptina em ruminantes**





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*ISSN 0103-9865  
Setembro, 2006*

## ***Documentos 107***

### **Ação hormonal da leptina em ruminantes**

Ana Karina Dias Salman  
Raphael Bermal Costa

Porto Velho, RO  
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Rondônia**

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 406, CEP 78900-970, Porto Velho, RO  
Telefones: (69) 3901-2510, 3225-9387, Fax: (69) 3222-0409  
www.cpafrro.embrapa.br

**Comitê de Publicações**

Presidente: *Flávio de França Souza*

Secretária: *Marly de Souza Medeiros*

Membros:

*Abadio Hermes Vieira*

*André Rostand Ramalho*

*Luciana Gatto Brito*

*Michelliny de Matos Bentes Gama*

*Vânia Beatriz Vasconcelos de Oliveira*

Normalização: *Daniela Maciel*

Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*

Revisão gramatical: *Wilma Inês de França Araújo*

**1ª edição**

1ª impressão: 2006, tiragem: 100 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Rondônia

---

Salman, Ana Karina Dias.

Ação hormonal da leptina em ruminantes / Ana Karina Dias Salman,  
Raphael Bermal Costa. - Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2006.  
21 p. : il. (Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865; 107).

1. Hormônio Animal – Leptina. 2. Metabolismo Animal. 3. Bovinos. I.  
Costa, Raphael Bermal. II. Título. III. Série.

---

CDD 573.44

© Embrapa - 2006

## **Autores**

### **Ana Karina Dias Salman**

Zootecnista, D.Sc., Embrapa Rondônia, Caixa Postal 406,  
CEP 78900-970, Porto Velho, RO.  
E-mail: aksalman@cpafro.embrapa.br.

### **Raphael Bermal Costa**

Zootecnista, Mestrando, Faculdade São Lucas, Estagiário  
Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO.



## **Sumário**

<b>Introdução.....</b>	<b>7</b>
<b>Gene da leptina .....</b>	<b>8</b>
<b>Polimorfismos no gene da leptina.....</b>	<b>8</b>
<b>Expressão gênica da leptina .....</b>	<b>9</b>
<b>Os receptores da leptina .....</b>	<b>10</b>
<b>Controle do apetite pela leptina .....</b>	<b>11</b>
<b>Modulação fisiológica da leptina .....</b>	<b>13</b>
<b>Ação da leptina sobre a reprodução .....</b>	<b>14</b>
<b>Considerações finais.....</b>	<b>16</b>
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>16</b>





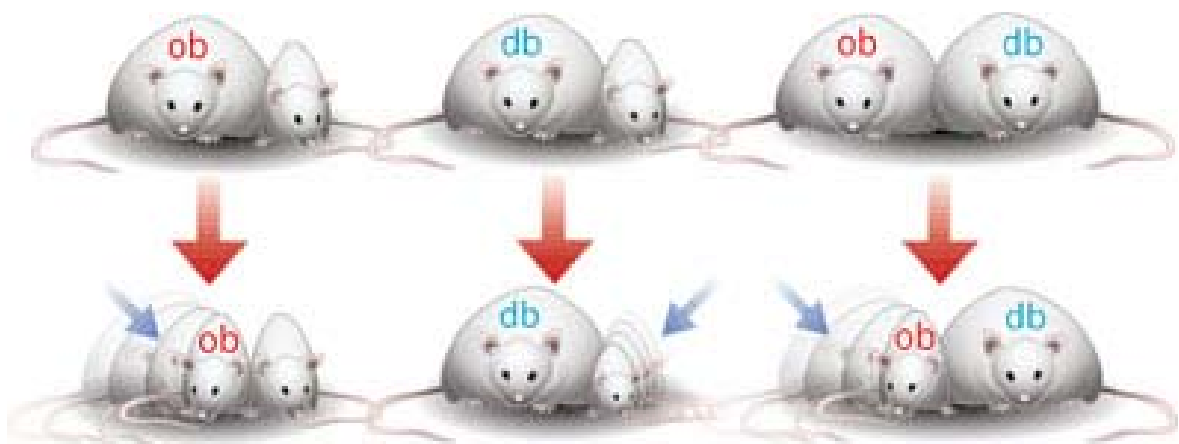
# Ação hormonal da leptina em ruminantes

*Ana Karina Dias Salman*  
*Raphael Bermal Costa*

## Introdução

Há mais de meio século, Kennedy (1953) propôs que a regulação do balanço energético é intermediada por um produto do metabolismo presente na circulação sanguínea que interage com receptores associados com o sistema nervoso central. Neste modelo, quando as reservas energéticas (tecido adiposo) estão elevadas, o centro da saciedade no hipotálamo é ativado, provocando a redução na ingestão de alimentos. Por outro lado, durante a restrição alimentar ou no jejum prolongado, as reservas de tecido adiposo são mobilizadas para produção de energia, ocorrendo um aumento concomitante do apetite.

Experimentos de parabiose, em que ratos obesos e magros tiveram a circulação sanguínea interligada (Fig. 1), evidenciaram a existência de um fator circulante sinalizador (HERVEY, 1958; Coleman, 1973) responsável pelo controle da ingestão de alimentos. Mas, somente em 1994, com os recursos da biotecnologia, foi possível caracterizar este fator e seu gene foi clonado em ratos e em humanos (ZHANG et al., 1994) e recebeu a denominação de gene da obesidade ou da leptina (que em grego significa magro). Este gene foi clonado em outras espécies como suínos (Ramsay et al., 1998), frangos (TAOUI et al., 1998) e bovinos (JI et al., 1998).



**Fig. 1.** Experimento de parabiose entre linhagens de camundongos: a linhagem //ob/ob //quando em parabiose com a linhagem normal ou com a db/db apresentava perda de peso//, //demonstrando que seu cérebro respondia à um fator circulante (leptina) que era produzido por camundongos normais e pela linhagem db/db./

Fonte: <http://www.scq.ubc.ca/wp-content/uploads/2006/08/parabiosis.jpg>

O gene se expressa nos adipócitos, principalmente no tecido adiposo branco, e codifica a leptina, um hormônio que apresenta uma cadeia polipeptídica com 167 aminoácidos, dos quais 21 aminoácidos iniciais representam uma seqüência sinalizadora que é descartada antes da proteína madura ser secretada na circulação sanguínea. A leptina madura é uma proteína monomérica de 16 kDa com duas cisteínas formando uma ligação dissulfídica intramolecular

(Zhang et al., 1994). Esta proteína regula o armazenamento, o equilíbrio e o uso de energia pelo organismo. Além disso, exerce papel sinalizador e modulador do estado nutricional do organismo para outros sistemas fisiológicos (CEDDIA et al., 1998).

## Gene da leptina

O gene da leptina bovina é composto de três exons e dois íntrons correspondendo em torno de 18,9 kb do genoma. O primeiro e o segundo íntron têm cerca de 14 e 1,7 kb, respectivamente. A organização exon-íntron desse gene é muito conservada entre camundongos, humanos e bovinos. A região 5' não traduzida de aproximadamente 3 kb apresenta sítios para as proteínas intensificadoras/CCAAT (C/EBP), Sp1 e TATA, mas ainda não foi completamente seqüenciada (TANIGUCHI et al., 2002).

Avaliando a expressão do gene da leptina no tecido adiposo e a natureza da expressão tecido-dependente em bovinos, Ji et al. (1998) observaram que o gene e a proteína leptina de bovinos apresentaram, respectivamente, 87 e 100% de similaridade com os genes e a proteína de humanos e ratos. Além disso, também notaram que o gene da obesidade em bovinos é expresso em um RNAm com 3090 nucleotídeos, o qual foi detectado em tecido adiposo, mas não foi encontrado no cérebro ou em outros tecidos.

## Polimorfismos no gene da leptina

Mutações nos genes que codificam a leptina ou seus receptores são responsáveis por obesidade, infertilidade e resistência à insulina em roedores e humanos (Houseknecht & Portocarrero, 1998). Uma mutação na região codificadora do gene da obesidade foi detectada em ratos *ob/ob*, a qual é responsável pela produção de uma molécula inativa que leva à obesidade, seguida de diabetes tipo II (ZHANG et al., 1994). Ratos diabéticos mutantes (*db/db*) apresentam obesidade semelhante à de ratos *ob/ob*, porém o nível de leptina observada na circulação de ratos *db/db* foi bem elevado em comparação com ratos magros normais. Como injeções intraperitoniais diárias de leptina recombinante reduziram em 30% o peso corporal de ratos *ob/ob*, após duas semanas de tratamento, mas não tiveram efeito em ratos *db/db*, Halaas et al. (1995) concluíram que ratos *db/db* são resistentes à leptina. Segundo Houseknecht et al. (1998), a resistência à leptina pode estar relacionada à falhas na expressão do receptor ou na seqüência de eventos de sinalização no cérebro.

A associação de polimorfismos e, ou do padrão de expressão do gene da obesidade com características de produção é de grande importância para os programas de melhoramento genético. Em suínos, Vicent (1997) detectou polimorfismos no gene do receptor da leptina e Robert et al. (1998) observaram que os polimorfismos no gene da leptina estavam associados com animais magros e que níveis elevados de RNAm da leptina foram correlacionados com maior espessura de gordura subcutânea. Hardge et al. (1998) observaram correlação estatisticamente significativa entre o polimorfismo detectado por RFLP (Polimorfismos no Comprimento de Fragmentos de Restrição) com a enzima de restrição *HinfI* no gene da leptina com a relação músculo: gordura e, também, com a espessura de gordura em uma população de 560 suínos.

Em bovinos, foram detectados polimorfismos no gene da obesidade (POMP et al., 1997; WILKINS; DAVEY, 1997; FITZSIMMONS et al., 1998; KONFORTOV et al., 1999; HAEGEMAN

et al., 2000), dos quais alguns foram associados à deposição de gordura na carcaça de bovinos de corte (FITZSIMMONS et al., 1998; BUCHANAN et al., 2002) e com características de balanço energético, produção de leite, peso vivo e fertilidade em gado leiteiro (LIEFERS et al., 2002). Tessanne et al. (1999) investigaram a relação entre os genótipos para dois microsátélites polimórficos (WILKINS; DAVEY, 1997; STONE et al., 1996) e dois RFLPs (LIEN et al., 1997) com características de carcaça e só encontraram efeito significativo entre o microsátélite polimórfico descoberto por Wilkins e Davey (1997) e a área de olho-de-lombo em um grupo de 137 bovinos da raça Angus.

No estudo de Buchanan et al. (2002) uma transição de citosina por timina no exon 2 do gene da leptina bovina, responsável pela mudança de arginina por cisteína na sequência de aminoácidos foi observada e a frequência do alelo T foi associada com carcaças mais gordas, com maior expressão gênica da leptina e com as raças britânicas (Angus e Hereford). Por outro lado, a frequência do alelo C foi associada com carcaças mais magras, com menor nível de expressão do gene e com raças continentais (Charolês e Simental).

## Expressão gênica da leptina

Collins et al. (1996) sugeriram que o tamanho dos adipócitos pode ser o principal determinante da expressão do RNAm da leptina. Além do tamanho dos adipócitos brancos, que reflete a quantidade de gordura armazenada, a insulina também deve ter importância sobre a quantidade de leptina secretada (XIE et al., 1999). Outros fatores como sexo, idade, dieta e jejum parecem estar relacionados com expressão do gene da obesidade. Em bovinos, Tsuchiya et al. (1998) observaram que os níveis de RNAm da leptina no tecido adiposo diminuíram significativamente após dois dias de restrição alimentar e voltaram parcialmente ao normal após três horas de realimentação.

Os estudos de expressão do gene da leptina em ruminantes só se iniciaram a partir de 1997 após a caracterização do RNAm (TELLAM, 1995) e do gene (TELLAM, 1996) da leptina bovina. Por causa do seu baixo nível de expressão, os estudos sobre a variação na quantidade de RNAm da leptina no tecido adiposo de ruminantes não são fáceis de serem conduzidos pelo método de Northern-blot com o RNA total. Os primeiros resultados foram obtidos em bovinos através do Northern-blot com o RNAm obtido em coluna de Poli A+ ou em ensaios de proteção a ribonuclease (JI et al., 1998; TSUCHIYA et al., 1998).

Quanto ao local de expressão, sabe-se que o tecido adiposo é o principal local de síntese e secreção da leptina em bovinos, porém o gene da leptina também se expressa em outros tecidos como nos placentários e fetais, na glândula mamária, no estômago, músculos, tecido adiposo marrom, entre outros (CHILLIARD et al., 2001). Considerando-se apenas o tecido adiposo de bovinos, Ji et al. (1998) não observaram diferenças nos padrões de expressão do gene da leptina entre os tecidos adiposos omental, perirenal ou subcutâneo. Porém, em outro estudo, observou-se que este gene expressou-se intensamente no tecido adiposo perirenal, moderadamente nos tecidos adiposos abdominal e subcutâneo; e em menor quantidade na gordura intramuscular (KIM et al., 2000).

A análise da expressão do gene da leptina no tecido adiposo de bovinos pelo método de proteção a ribonuclease foi estudada por Tsuchiya et al. (1998), os quais observaram que bovinos em jejum por 48 horas apresentaram níveis de RNAm da leptina no tecido adiposo subcutâneo significativamente menores, 47% em relação àqueles que estavam sendo bem alimentados. Com realimentação de apenas três horas, estes níveis aumentaram em 67%.

Este resultado mostrou que a alimentação afeta os níveis de expressão do gene da leptina em ruminantes.

Além da alimentação, existem os fatores hormonais que interferem na expressão do RNAm do gene *ob*. Estudos recentes vêm demonstrando que o tratamento com injeções intravenosas do hormônio do crescimento (GH) e do neuropeptídeo-Y (NPY) pode aumentar a síntese de leptina, a qual produz um mecanismo de retroalimentação sobre seu receptor no cérebro, diminuindo a secreção desses hormônios na circulação periférica (CHILLIARD et al., 2001).

Como injeções intravenosas de NPY aumentaram os níveis de RNAm da leptina e do receptor do NPY – Y1 no tecido adiposo subcutâneo de ovinos (DYER et al., 1997), acredita-se que existe uma alça de retroalimentação negativa (efeito inibitório da leptina sobre a secreção de NPY) no cérebro de ovinos (HENRY et al., 1999).

O tratamento de bovinos em crescimento com GH aumentou os níveis de RNAm da leptina e do fator 1 de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no tecido adiposo, com simultâneo aumento da insulina plasmática (HOUSEKNECHT et al., 2000). Embora tenha sido observado *in vitro* que a leptina diminui a expressão do Hormônio Liberador de Hormônio de Crescimento (GHRH) e, conseqüentemente, a secreção de GH, em células da pituitária de ovinos (ROH et al., 1998), acredita-se que *in vivo* o efeito do GH sobre a secreção da leptina seja parte de um mecanismo de retroalimentação. Nagatani et al. (2000) demonstraram, em ovinos sob restrição alimentar, que a leptina aumenta os níveis plasmáticos de GH.

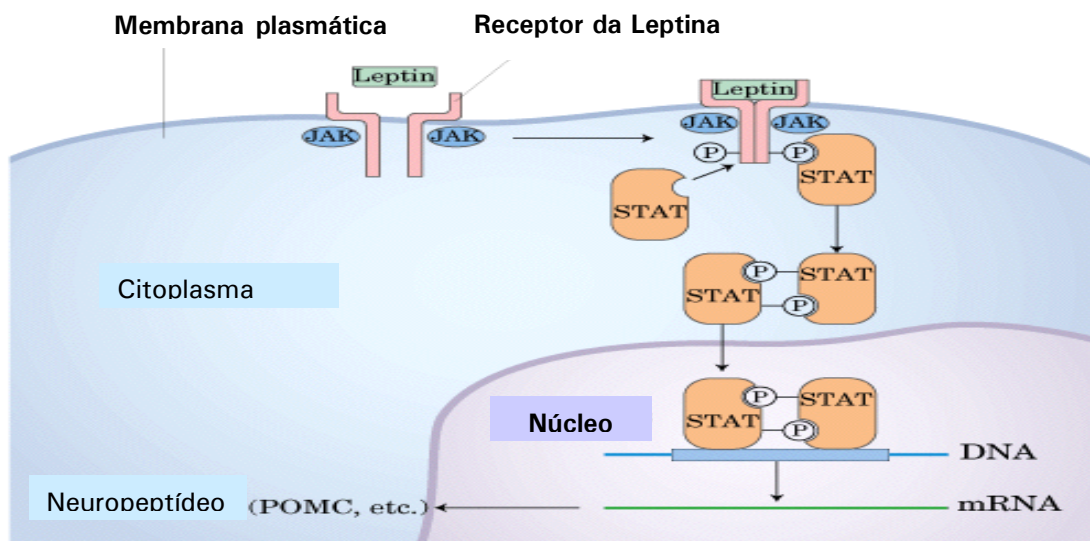
Com relação aos glicocorticóides e a insulina, Houseknecht et al. (1998) verificaram que estes aumentam a expressão da leptina no tecido adiposo de ratos. Em bovinos, a expressão *in vitro* do RNAm da leptina do tecido adiposo aumentou com a adição de insulina e/ou dexametasona (glicocorticóide sintético) e estes efeitos foram atenuados com a adição simultânea do GH (HOUSEKNECHT et al., 2000). Isto sugere que estes hormônios agem por mecanismos diferentes (CHILLIARD et al., 2001).

## Os receptores da leptina

A leptina produzida e secretada pelas células do tecido adiposo é transportada, via corrente sanguínea, para tecidos-alvo, onde interage com receptores celulares específicos. O receptor celular da leptina (ob-R) pertence à classe I, da família de receptores de citoquinina, à qual também pertencem os receptores do hormônio do crescimento, da prolactina e da interleucina-6, entre outros. O gene *ob-R* tem sido identificado, através de técnicas como o *Northern blot*, hibridização *in situ* e da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), em vários tecidos do organismo, inclusive no cérebro, fígado, musculatura esquelética e no próprio tecido adiposo (CEDDIA et al., 1998).

O receptor da leptina é uma proteína integral de membrana e o exame de vários tecidos tem demonstrado que o mesmo existe em múltiplas formas, apresentando uma seqüência extracelular comum e uma porção citoplasmática com comprimento variável. As isoformas do receptor da leptina são resultantes do processamento alternativo do RNA mensageiro produzido por um único gene. De maneira geral, os receptores da leptina podem ser classificados em isoformas que apresentam cauda citoplasmática curta (isoformas a, c, d, f) e uma única isoforma que apresenta cauda citoplasmática longa (ob-R<sub>b</sub>). A isoforma ob-R<sub>e</sub> é composta apenas pelo domínio extracelular, representando uma provável forma solúvel do receptor que estaria envolvida no transporte da leptina para as regiões periféricas (CEDDIA et al., 1998).

Resumidamente, a ligação da leptina ao seu receptor induz a dimerização do mesmo e, em seguida, ocorre a fosforilação de resíduos de tirosina do domínio intracelular do receptor catalizada pela enzima Janus quinase (JAK). Os resíduos de fosfotirosina transformam-se em sítios de acoplamento de três proteínas que são transdutores de sinais e ativadores de transcrição-STATs (Signal Transducers and Activation of Transcription). As STATs acopladas são então fosforiladas em seus resíduos de tirosina pela mesma JAK. Após a fosforilação, as STATs movem para o núcleo, onde se ligam à seqüências específicas do DNA e estimulam a expressão de genes-alvos específicos (Fig. 2). A expressão de genes do NPY e POMC é regulada pela leptina por este mecanismo (NELSON; COX, 2000).

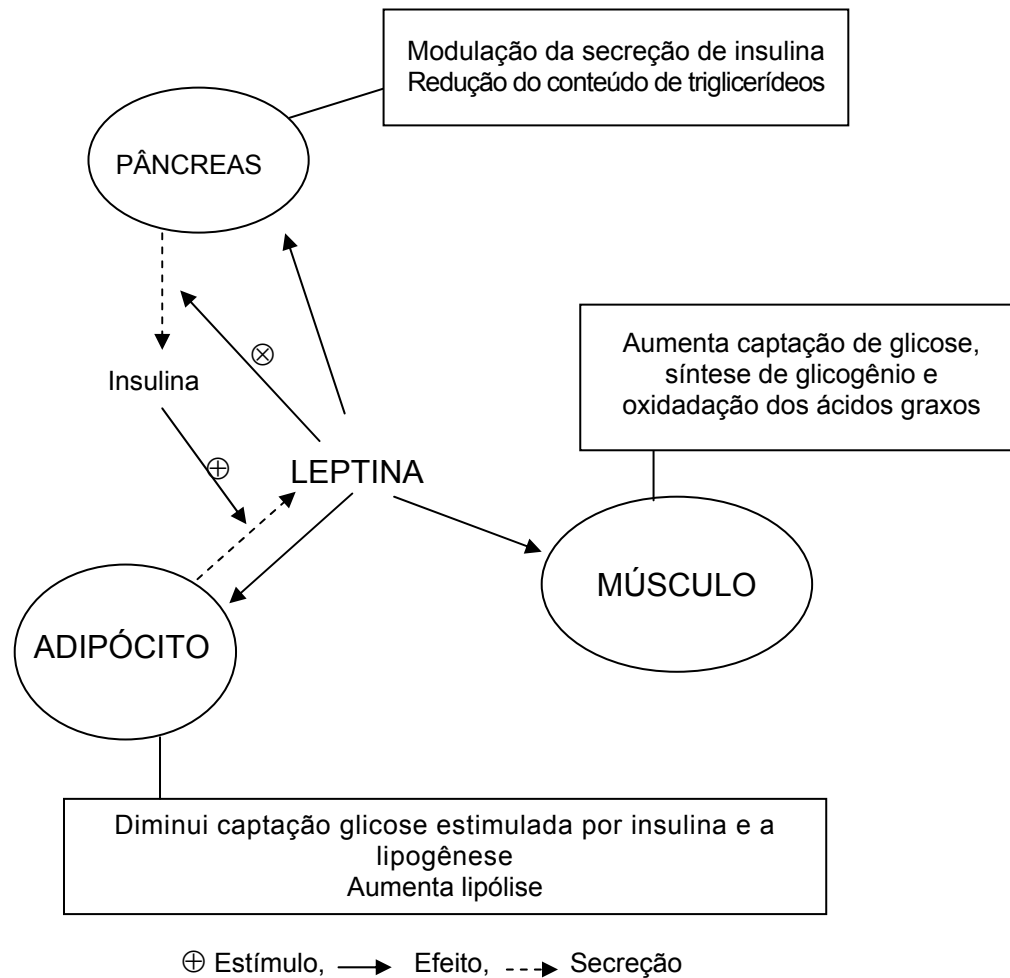


**Fig. 2.** Regulação de expressão gênica de alguns neuropeptídeos pela ação da leptina.  
Fonte: Adaptado de Nelson e Cox (2000).

## Controle do apetite pela leptina

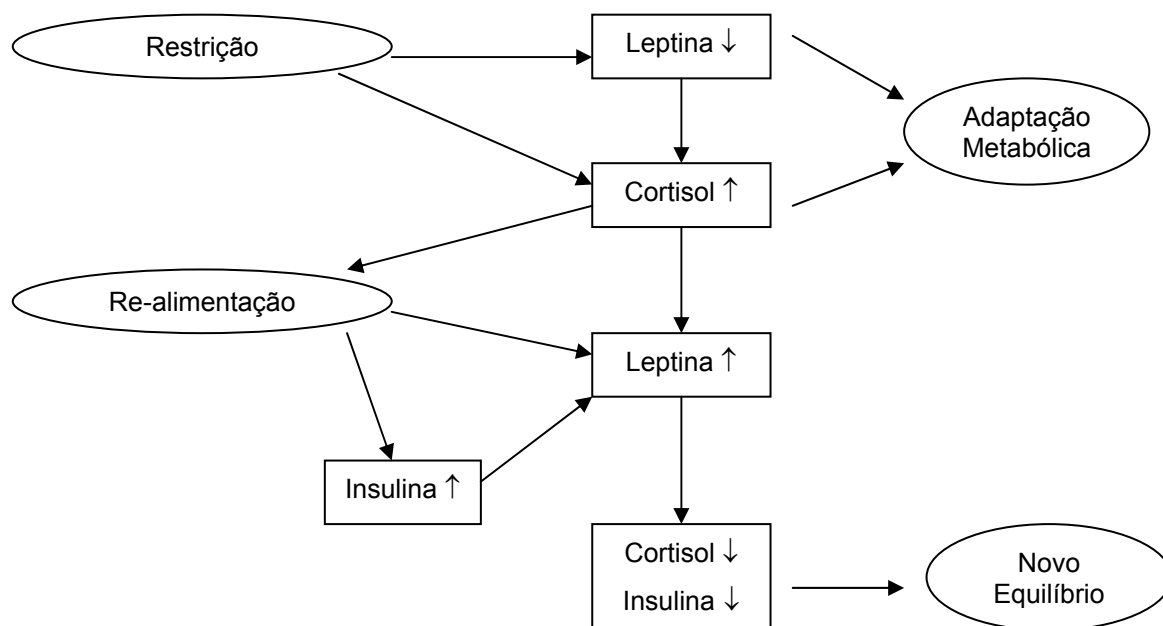
Os estudos realizados com seres humanos e com linhagens de ratos obesos (*ob/ob*) ou diabéticos (*db/db*) têm demonstrado o envolvimento da leptina no controle do apetite e na modulação da secreção da insulina pelo pâncreas. Numa ação autócrina, a leptina exerce um efeito inibitório sobre a captação de glicose estimulada pela insulina, reduz a lipogênese e estimula a lipólise no tecido adiposo. De maneira endócrina, a leptina estimula a captação de glicose e a síntese de glicogênio pelas células do tecido muscular, além de acelerar a taxa de oxidação de ácidos graxos neste tecido (Fig. 3) (CEDDIA et al., 1998).

Além dos mecanismos periféricos, acredita-se que a ação da leptina sobre a ingestão e o metabolismo energético seja mediada via sistema nervoso central, através da inibição da síntese e da secreção do NPY. Como o NPY estimula a ingestão e diminui a termogênese de gordura marrom, além de estar relacionado com o aumento dos níveis plasmáticos de insulina e de corticosteróides, acredita-se que o mesmo sirva como mediador em algumas ações da leptina no hipotálamo (HOSSNER, 1998). O aumento dos níveis de leptina, devido à grande quantidade de gordura depositada, diminui a expressão do NPY. Dessa forma, o sistema nervoso simpático é ativado e a produção de calor no tecido adiposo marrom é estimulada resultando em aumento no gasto de energia corporal e perda de peso (XIE et al., 1999).



**Fig. 3.** Efeito da leptina nos adipócitos, no pâncreas e no músculo esquelético.  
 Fonte: Adaptado de Ceddia et al., 1998.

Analisando os resultados dos estudos de expressão gênica *in vivo* e *in vitro* combinados com os efeitos observados na restrição alimentar e na realimentação, Chilliard et al. (2001) sugeriram que a leptina além de evitar a deposição excessiva de gordura corporal, parece ter um papel importante durante a adaptação dos animais à restrição alimentar. O rápido decréscimo nos níveis plasmáticos da leptina em animais sob restrição alimentar pode ser um sinal para estimular a ingestão na situação de realimentação e aumentar a secreção de glicocorticóides, diminuir a atividade da tireóide, o gasto energético e a síntese protéica, além de bloquear a reprodução (Fig. 4).



**Fig. 4.** Relação entre a leptina plasmática, o cortisol e a insulina durante a restrição alimentar e a realimentação em ruminantes.

Fonte: Chilliard et al., 2001.

## Modulação fisiológica da leptina

Os níveis plasmáticos de leptina podem ser regulados por meio de efeitos sobre os mecanismos de transcrição do seu gene e/ou de síntese da proteína. As proteínas de ligação intensificadoras/CAAT estão relacionadas com a regulação da transcrição do gene. Outros fatores como os glicocorticóides, a insulina, a adenilato ciclase (AMPc) e os receptores  $\beta$ -adrenérgicos também estão associados com a regulação da expressão da leptina. Acredita-se que a insulina tem efeito tanto sobre a expressão quanto sobre a secreção da leptina. Parece que a insulina e a leptina fazem parte de uma alça de retroalimentação, enquanto a insulina estimula a secreção da leptina a leptina circulante inibe a produção de insulina (XIE et al., 1999).

Para o melhor entendimento da regulação da leptina em ruminantes, Chilliard et al. (2001) resumiram como a secreção da leptina é alterada através de fatores fisiológicos, nutricionais e endócrinos. Basicamente, a síntese da leptina em ruminantes é incrementada em longo prazo com o aumento da camada de gordura no corpo (tamanho e/ou número de adipócitos). O fotoperíodo (no caso de ovinos) e o nível nutricional afetam a expressão da leptina em médio prazo. Em curto prazo (após a refeição), a regulação da síntese e secreção da leptina é mais complexa e envolve interações entre os metabólitos no sangue (glicose, ácidos graxos não esterificados, corpos cetônicos, etc.) e os hormônios (insulina, GH, catecolaminas e glicocorticóides).

Pela técnica de radioimunensaio utilizando kit multi-species, estudos foram realizados para monitorar a leptina plasmática em ruminantes, sendo que esta foi positivamente associada com a espessura de gordura no músculo longíssimus, com o grau de marmorização em bovinos de corte (MINTON et al., 1998; TOKUDA et al., 1999) e com a gordura corporal da carcaça de novilhos na fase de crescimento (EHRHARDT et al., 2000). Em bovinos da raça Japanese Black no período de 10 a 27 meses de idade, Kawakita et al. (2001) verificaram que a leptina plasmática aumenta significativamente com a idade e que a espessura de gordura na carcaça na ocasião do abate foi positivamente associada com a taxa de aumento da leptina no plasma, principalmente entre 11 e 14 meses de idade. No entanto, o coeficiente de correlação entre estes parâmetros foi relativamente baixo, indicando que os níveis plasmáticos de leptina

não devem ser utilizados para prever o acúmulo de gordura na carcaça de bovinos Japanese Black. Em estudo mais recente, Delavaud et al. (2002) observaram, em vacas holandesas, que os níveis da leptina plasmática e o tamanho dos adipócitos apresentaram uma relação curvilínea e que 4 horas após a alimentação a concentração da leptina no plasma apresenta correlação positiva com o nível nutricional.

## Ação da leptina sobre a reprodução

A idade de início da puberdade, dentro de certos limites, é afetada pela ingestão de energia dietética, pela taxa de crescimento e pela adiposidade. A restrição moderada de energia da dieta e o crescimento restrito atrasam a puberdade, primariamente, através da inibição de elevadas freqüências de pulsos de LH (hormônio luteinizante), que ocorre, em parte, devido à elevada sensibilidade ao estradiol e à falta de um sinal de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)<sup>1</sup> (WILLIAMS et al., 2002).

A ingestão de energia e o metabolismo exercem efeitos importantes sobre o sistema neuro-hormonal, ambos antes e depois da maturação sexual. A maturação sexual envolve a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, um processo que resulta na ovulação de oócitos viáveis em fêmeas e na espermatogênese em machos (KNOBIL; NEIL, 1988). Esta transição ocorre em uma idade pré-determinada geneticamente. Porém, outras variáveis como o fotoperíodo, peso corporal e adiposidade podem afetar a idade com que a puberdade se inicia (KINDER et al., 1995). Apesar da precisão dos sinais químicos ou hormonais que relacionam o peso corporal e a adiposidade com o início da puberdade ainda não ter sido claramente definida, a existência desses sinais vem sendo proposta há mais de três décadas (FRISCH, 1984; WILTBANK et al., 1996). Recentemente, sugeriu-se que a leptina poderia ser um desses sinais (CHEHAB et al., 1996; CHEUNG et al., 1997; STROBEL et al., 1998). Além disso, a leptina é também sintetizada nos oócitos, células da granulosa (CIOFFI et al., 1997; KARLSSON et al., 1997) e tecidos placentários (MASUKAKI et al. 1997).

Alguns resultados oriundos de pesquisas com humanos e animais sugerem que a leptina está envolvida na regulação de esteróides sexuais. Entretanto, ainda não foi possível explicar a ligação entre a leptina e as funções reprodutivas em ruminantes. Ainda, alguns trabalhos têm mostrado que a estimulação ovariana, como parte de um programa de fertilização *in vitro*, está relacionada com concentrações elevadas de leptina (STROWITZKI et al., 1998; BÜTZOW et al., 1999; ZHAO et al., 2000; LINDHEIM et al. 2000)

Estudos em rebanhos bovinos têm demonstrado que a expressão gênica e a concentração da leptina circulante são afetadas pelo fluxo de nutrientes e associadas com alterações nos níveis séricos de insulina, de IGF-1 e de hormônio luteinizante (LH) em novilhas na fase de pré-puberdade (AMSTALDEN et al., 2000). Além disso, a administração central da leptina recombinante de ovino estimulou significativamente a secreção de insulina pelo pâncreas e de LH pela glândula pituitária de vacas ovariectomizadas e em jejum por 60 horas (AMSTALDEN et al., 2002). Em ovinos, sob restrição alimentar, Nagatani et al. (2000) verificaram que a secreção de GH e de LH é modulada pela leptina, indicando que este hormônio converge informações sobre o estado nutricional para os mecanismos que controlam a função reprodutiva em ruminantes por meio de fatores neuroendócrinos.

A relação da leptina com a puberdade de novilhas mestiças de raças leiteiras foi verificada por Garcia et al. (2002) em um experimento onde tanto a leptina circulante quanto a expressão do gene da leptina aumentaram significativamente com a aproximação da puberdade, embora os

<sup>1</sup> Kinder et al. (1987)



valores observados para estas duas variáveis não terem sido correlacionados. Ainda nesse estudo, aumentos no peso vivo corporal e na concentração de IGF-1 no soro dessas fêmeas foram associados aos níveis de leptina no soro e com a expressão gênica.

Os primeiros estudos a respeito da ação da leptina sobre a maturação sexual foram realizados em animais monogástricos. Chehab et al. (1996) induziram a puberdade precoce em fêmeas normais de camundongos por meio de injeções de leptina recombinante, apesar das mesmas terem se apresentado mais magras e de terem consumido menos alimentos em relação às fêmeas não tratadas. Ainda neste estudo, os autores verificaram que as fêmeas tratadas com leptina reproduziram e apresentaram maturação do sistema reprodutivo (aumento de peso do útero, ovários e ovidutos) mais cedo que as fêmeas não tratadas.

Em estudo semelhante, Cheung et al. (1997) também verificaram que a leptina induziu a puberdade em fêmeas normais de camundongos, bem como aumentou o peso do útero e dos ovários. Quando estes animais sofreram restrição de cerca de 70% da ingestão *ad libitum*, a leptina reverteu apenas parcialmente a falta de maturação sexual induzida pela subnutrição, o que levou estes autores a concluir que a leptina não é um fator primário na indução da puberdade, mas esta pode induzir a maturação do sistema reprodutivo quando as fontes metabólicas são adequadas.

Barash et al. (1996) mostraram que o sistema reprodutivo de camundongos ob/ob (com mutação recessiva no gene da leptina) foi afetado pelo tratamento com leptina recombinante. As fêmeas apresentaram aumento nas concentrações séricas de LH e nos pesos dos ovários e do útero, enquanto os machos mostraram aumento nos níveis de hormônio folículo-estimulante (FSH), no peso dos testículos e das vesículas seminais, bem como no número de espermatozoides quando comparados com os seus correspondentes não tratados com leptina. A infertilidade de camundongos machos provocada pela restrição alimentar foi revertida, e comprovada pela normalização do peso dos testículos e das características histológicas dos mesmos, após o tratamento com leptina exógena, no estudo de Mounzih et al. (1997).

A ação da leptina sobre a reprodução parece ser realizada diretamente pela ativação de neurônios que contêm GnRH. No entanto, uma pequena co-expressão entre neurônios que contêm GnRH e o receptor da leptina tem sido observada. É mais aceito que a leptina exerce um efeito trans-sinapse através dos neuropeptídeos hipotalâmicos NPY e proopiomelanocortina (POMC). A leptina estimula a expressão do POMC, que por sua vez resulta no aumento da produção de hormônio alfa melanócito estimulante ( $\alpha$ -MSH), o qual estimula a saciedade. Entretanto, parece que o NPY é o mediador primário da ação da leptina no hipotálamo sobre a regulação do LH e da somatotropina (WILLIAMS et al., 2002). A representação esquemática dos efeitos da leptina no pâncreas endócrino e no eixo hipotálamo-pituitário em animais pode ser observada na Fig. 5.

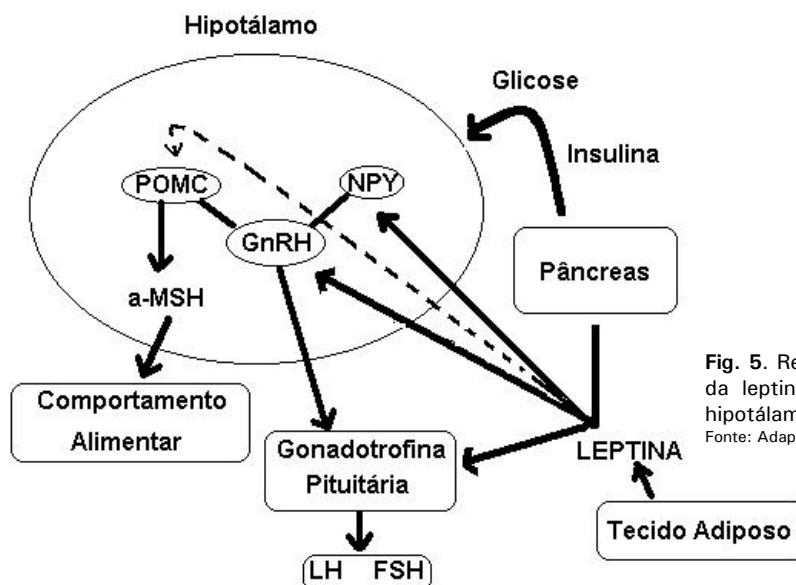


Fig. 5. Representação esquemática dos efeitos da leptina no pâncreas endócrino e no eixo hipotálamo-pituitário em animais.

Fonte: Adaptado de Willians et al., 2002.

## Considerações finais

A descoberta do gene da leptina e, posteriormente, da sua ação hormonal ajudou a desvendar muitos eventos do metabolismo energético animal e por conseqüência o entendimento das diferenças genéticas entre algumas raças bovinas com relação aos diferentes padrões de consumo voluntário, produção de leite, ganho de peso e deposição de gordura na carcaça. Atualmente, a relação entre o estado nutricional e o desempenho reprodutivo de bovinos é melhor compreendida do ponto de vista fisiológico, porém mais estudos devem ser conduzidos para verificar a viabilidade de novas estratégias de manejo nutricional e reprodutivo fazendo-se uso desses novos conhecimentos e considerando-se a aplicação exógena da leptina recombinante.

## Referências bibliográficas

- AMSTALDEN, M; GARCIA, M.R.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 1555-61, 2002.
- AMSTALDEN, M; GARCIA, M.R.; WILLIAMS, S.N.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H.; WILLIAMS, G.L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin like-growth factor I. **Biology of Reproduction**, v. 63, p.127-33, 2000.
- BARASH, I.A.; CHEUNG, C.C.; WEIGLE, D.S.; REN, H.; KABIGTING, E.B.; KUIJPER, J.L.; CLIFTON, D.K.; STEINER, R.A. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. **Endocrinology**, v.137, p.3144-7, 1996.
- BUCHANAN, F.C.; FITZSIMMONS, C.J.; VAN KESSEL, A.G.; THUE, T.D.; WINKELMAN-SIM, D.C.; SCHMUTZ, S.M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. **Genetic Selection Evolution**, v. 34, p. 105-116, 2002.

BÜTZOW, T.; MOILANEN, J. LEHTOVIRTA, M.; TUOMI, T.; HOVATTA, O.; SIEGBERG, R.; NILSSON, C.G.; APTER, D. Serum versus follicular fluid leptin in vitro fertilization: relationship among leptin increase, body fat mass and reduced ovarian response. **Journal Clinical Endocrinology Metabolism**, v. 84, p. 3135-3139, 1999.

CEDDIA, R.P.; WILLIAMS JR., W.N.; LIMA, F.B.; CARPINELLI, A.R.; CURI, R. Pivotal role of leptin in insulin effects. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 715-22, 1998.

CHEHAB, F.F.; LIM, M.E.; RONGHUA, L. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with human recombinant leptin. **Natural Genetics**, v. 12, p. 318-20, 1996.

CHEUNG, C.C.; THORNTON, J.E.; KUIJPER, J.L.; WEIGLE, D.S.; CLIFTON, D.K.; STEINER, R.A. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in female rat. **Endocrinology**, v. 138, p. 855-8, 1997.

CHILLIARD, Y.; BONNET, M.; DELAVAL, C.; FAULCONNIER, Y.; LEROUX, C.; DJIANE, J.; BOCQUIER, F. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 21, p. 271-295, 2001.

CIOFFI, A.A.; VAN BLERKOM, J.; ANTCHAK, M.; SHAFER, A.; WITTMER, S.; SNODGRASS, H.R. Expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. **Molecular Human Reproduction**, v. 3, p. 467-472, 1997.

COLEMAN, D.L. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. **Diabetologia**, v. 9, p. 294-8, 1973.

COLLINS, S.; KUHN, C.M.; PETRO, A.E.; SWICK, A.K.; CHRUNYK, B.A.; SURWIT, R.S. Role of leptin in fat regulation. **Nature**, v. 380, p. 677, 1996.

DELAVAL, C.; FERLAY, A.; FAULCONNIER, Y.; BOCQUIER, F.; KANN, G.; CHILLIARD, Y. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1317-1328, 2002.

DYER, C.J.; SIMMONS, J.M.; MATTERI, R.L.; KEISLER, D.H. Effects of an intravenous injection of NPY on the leptin and NPY-Y1 receptors mRNA expression in ovine adipose tissue. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 14, p. 325-333, 1997.

EHRHARDT, R.A.; SLEPETIS, R.M.; SIEGAL-WILLOTT, J.; VAN AMBURGH, M.E.; BELL, A.W.; BOISLAIR, Y.R. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 166, p. 519-528, 2000.

FITZSIMMONS, C.J.; SCHMUTZ, S.M.; BERGEN, R.D.; MCKINNON, J.J. A potential association between the BM 1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. **Mammalian Genome**, v. 9, p. 432-434, 1998.

FRISCH, R. E. Body fat, puberty and fertility. **Biology Reviews**, v. 59, p. 161-88, 1984.

GARCIA, M.R.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, S.W.; STANKO, R.L.; MORRISON, C.D.; KEISLEY, D.H.; NIZIELSKI, S.E.; WILLIAMS, G.L. Serum leptin gene and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2158-2167, 2002.

HAEGEMAN, A.; VAN ZEVEREN, A.; PEELMAN, L.J. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 31, p. 70, 2000.

HALAAS, J.L.; GAJIWALA, K.S.; MAFFEI, M.; COHEN, S.L.; CHAIT, B.T.; RABINOWITZ, D.; LALLONE, R.L.; BURLEY, S.R.; FRIEDMAN, J.M. Weight-reducing effects of plasma protein encoded by the obese gene. **Science**, v. 269, p. 543-9, 1995.

HARDJE, T.; KÖPKE, K.; WIMMERS, K.; LEUTHOLD, D. Association between polymorphism of the leptin gene (LEP) and performance traits in a porcine resource family and in commercial outbred population. **Animal Genetics**, v. 29 (supplement 1), p. 70, 1998.

HENRY, B.A.; GODING, J.W.; ALEXANDER, W.S.; TILBROOK, A.J.; CANNY, B.J.; DUNSHEA, F.; RAO, A. MANSELL, A.; CLARKE, I.J. Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. **Endocrinology**, v. 140, p. 1175-1182, 1999.

HERVEY, G.R. The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats. **Journal Physiology**, v. 145, p. 336-52, 1958.

HOSSNER, K.L. Cellular, molecular and physiological aspects of leptin: potential application in animal production. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 463-72, 1998.

HOUSEKNECHT, K.L.; BAILE, C.A.; MATTERI, R.L.; SPURLOCK, M.E. The biology of leptin: A review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1405-20, 1998.

HOUSEKNECHT, K.L.; PORTOCARRERO, C.P. Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, p. 457-75, 1998.

HOUSEKNECHT, K.L.; PORTOCARRERO, C.P.; JI, S.; LEMENAGER, R.; SPURLOCK, M.E. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. **Journal Endocrinology**, v. 164, p. 51-57, 2000.

JI, S.; WILLIS, G.M.; SCOTT, R. R.; SPURLOCK, M.E. Partial cloning and expression of bovine leptin gene. **Animal Biotechnology**, v. 9, p. 1-14, 1998.

KAWAKITA, Y.; ABE, H.; HODATE, K.; IGUCHI, A.; KOBAYASHI, M.; MORI, T.; KASAI, K.; TANAI, Y.; KAMBE, Y.; MASHIYAMA, H.; ASADA, T.; MIYASHIGE, T. The relation between plasma leptin concentrations and carcass lipid contents in Japanese Black steers. **Livestock Production Science**, v. 73, p. 25-34, 2001.

KENNEDY, G.C. The role of depot fat in hypothalamic control of food intake in the rat. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 140, p. 578-92, 1953.

KIM, H.; CHI, Y.; CHUNG, K.; KIM, K.; CHOI, Y.; BAIK, M. Differential response of obese gene expression from fasting in bovine adipose tissues. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 64, p. 2240-2242, 2000.

KINDER, J.E.; BERGFELD, E.G.M.; WEHRMAN, M.E.; PETERS, K.E.; KOJIMA, F.M. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. In: SCARAMUZZI, R. J.; NANCARROW, C. D.; DOBERSKA, C. (Ed.). **Reproduction in Domestic Ruminants**. Dorset, UK: The Dorset Press, 1995. p. 400-403.

KNOBIL, E.; NEIL, J.D. Puberty in rats. In: THE PHYSIOLOGY of Reproduction. New York: Raven Press, 1998. v. 2. p. 1711-1720.

KONFORTOV, B.A.; LICENCE, V.E.; MILLER, J.R. Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. **Mammalian Genome**, v. 10, p. 1142-5, 1999.

LIEFERS, S.C.; te PAS, M.F.W.; VEERKAMP, R.F.; VAN DER LENDE, T. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1633-1638, 2002.

LIEN, S.; SUNDVOLD, H.; KLUNGLAND, H.; VAGE, D.I. Two novel polymorphisms in the bovine obesity gene (OBS). **Animal Genetics**, v. 28, p. 238-246, 1997.

LINDHEIM, H.; SAUER, M. CARMINA, E. ; CHANG, P. Circulating leptin levels during ovulation induction, relation to adiposity and ovarian morphology. **Fertil Steril**, v. 73, p. 493-498, 2000.

MASUKAKI, H.; OGAWA, Y.; SAGAWA, N.; HOSODA, K.; MATSUMOTO, T.; NISHIMURA, H.; YOSHIMASA, Y.; TANAKA, I.; MORI, T.; NAKAO, K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Natural Medicine**, v. 2, p. 1029-1033, 1997.

MINTON, J.E.; BINDEL, D.J.; DROUILLARD, J.S.; TITGEMEYER, E.C.; GRIEGER, D.M.; HILL, C.M. Serum leptin is associated with carcass traits in finishing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, supplement 1, p. 231, 1998.

MOUNZIH, K.; LU, R.; CHEHAB, F. F. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. **Endocrinology**, v. 138, p. 1190-3, 1997.

NAGATANI, S.; ZENG, Y.; KEISLER, D.H.; FOSTER, D.L.; JAFFE, C.A. Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep. **Endocrinology**, v. 141, p. 3965-3975, 2000.

NELSON, D.L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3<sup>rd</sup> edition. Worth Publishers, New York, NY, EUA, 2000.

POMP, D.; ZOU, T.; CLUTTER, A.C.; BARENDSE, W. Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of PCR-based polymorphism. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1427, 1997.

RAMSAY, T. G.; YAN, X.; MORRISON, C. The obesity gene in swine: sequence and expression of porcine leptin. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 484-90, 1998.

ROBERT, C.; PALIN, M.; COULOMBE, N.; ROBERGE, C.; SILVERSIDES, F.G.; BENKEL, B.F.; MCRAE, R.M.; PELLETIER, G. Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 78, p. 473-82, 1998.

ROH, S.; CLARKE, I.J.; XU, R.; GODING, J.W.; LONERAGAN, K.; CHEN, C. The in vitro effect of leptin on basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated growth hormone secretion from the ovine pituitary gland. **Neuroendocrinology**, v. 68, n. 6, p. 361-364, 1998.

STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; BEATTLE, C.W. The bovine homologue of obese gene maps to chromosome 4. **Mammalian Genome**, v. 7, p. 399-400, 1996.

STROBEL, A.; ISSAD, T.; CAMOIN, L.; OZATA, M.; STROSBERG, A.D. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. **Natural Genetics**, v. 18, p. 213-5, 1998.

STROWITZKI, T.; KELLERER, M.; CAPP, E.; HARING, H.U.; Increase in serum leptin concentrations in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for assisted reproduction. **Gynecol Endocrinol**, v. 12, p. 167-169, 1998.

TANIGUCHI, Y.; ITOH, T.; YAMADA, T.; SASAKI, Y. Genomic structure and promoter analysis of the bovine leptin gene. **IUBMB life**, v. 53, p. 131-135, 2002.

TAOUI, M.; CHEN, J.; DAVIAUD, C.; DUPONT, J.; DEROUET, M.; SIMON, J. Cloning the chicken leptin gene. **Gene**, v. 208, p. 239-42, 1998.

TELLAM, R.L. **Bos taurus OBESSE mRNA, complete cds**. GenBank Accession No. U43943. 1995.

TELLAM, R.L. **Bos taurus leptin (obese) gene, complete cds**. GenBank Accession No. U50365. 1996.

TESSANE, K.; HINES, H.C.; DAVIS, M.E. Relationships of polymorphisms in the bovine leptin gene with differences in beef carcass traits. **Bulletin Research and Reviews: Beef and Sheeps**, 1999. (Special Circular no. 170).

TOKUDA, T.; MATSUI, R.; YANO, H. Leptin concentrations in the blood of ruminants. **South Africa Journal of Animal Science**, v. 29, p. 211-212, 1999.

TSUCHIYA, T.; NAGAO, Y.; OZAWA, A.; MATSUMOTO, M.; SUGAHARA, K.; KUBO, T.; KATO, H. Decrease of obese gene expression in bovine subcutaneous adipose tissue by fasting. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v. 62, p. 2068-9, 1998.

VICENT, A.L. A restriction fragment length polymorphism in the porcine leptin receptor (LEPR) gene. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2287, 1997.

WILKINS, R.J.; DAVEY, H.W. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 28, p. 376, 1997.

WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M.R.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 339-49, 2002.

WILTBANK, J.N.; GREGORY, L.A.; SWINGER, J.E.; INGALLS, J.E.; ROTHLIBERGER, J.A.; KOCH, R.M. Effects of heterosis on age and weight at puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 25, p. 744-51, 1996.

XIE, C.; WEGNER, J.; BROCKMANN, G. A. Leptin, a palatability molecule? – A review. **Archiv Für Tierzucht**, v. 42, n. 2, p. 191-199, 1999.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEPOLD, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, p. 425-32, 1994.

ZHAO, Y.; KREGER, D.; BRANNIAN, J. Serum leptin concentration in women during gonadotropin stimulation cycles. **J Reprod Med**, v. 45, p. 121-125, 2000.

***Embrapa***

---

***Rondônia***

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO